

Significación etiológica del *Propionibacterium acnes* en el desarrollo del acné vulgaris

Etiologic role of Propionibacterium acnes in the development of acne vulgaris

Marilú Jaramillo¹, Dolores Bazalar².

RESUMEN

Se realizó una evaluación microbiológica en 20 pacientes con diferentes grados de acné vulgaris, quienes no se encontraban sometidos a tratamiento alguno, ni presentaban cuadros infecciosos concomitantes. En doce pacientes se aisló *Propionibacterium acnes*, en siete la asociación de *Propionibacterium acnes* y *Staphylococcus epidermidis*, y en uno la asociación de *Propionibacterium acnes* y *Propionibacterium granulosum*. Los resultados obtenidos confirman que la flora bacteriana de las lesiones inflamatorias del acné vulgaris está constituida principalmente por *Propionibacterium acnes* y *Staphylococcus epidermidis*. El *Propionibacterium granulosum* se presenta solamente en algunos pacientes con acné severo. Por lo tanto, *Propionibacterium acnes* podría jugar un rol directo en la iniciación y mantenimiento de las lesiones inflamatorias del acné vulgaris.

Palabras clave: Acné vulgaris; *Propionibacterium acnes*; *Staphylococcus epidermidis*; *Propionibacterium granulosum*; Lesiones inflamatorias.

SUMMARY

A microbiological study was made in 20 patients with different degrees of acne vulgaris, which were not under treatment, nor presented infectious diseases at the same time. In 12 patients *Propionibacterium acnes* was isolated, in seven the association between *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis* and in one the association between *Propionibacterium acnes* and *Propionibacterium granulosum*. The results confirm that the bacterial flora involved in acne vulgaris is constituted mainly by *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis*. The *Propionibacterium granulosum* only appears in some patients with severe acne. Therefore, *Propionibacterium acnes* could play a direct role in the initiation and maintenance of the inflammatory injuries of acne vulgaris.

Key words: Acne vulgaris; *Propionibacterium acnes*; *Staphylococcus epidermidis*; *Propionibacterium granulosum*; Inflammatory injuries.

¹ Ayudante de Trabajos Prácticos de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM.

² Profesor Principal de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM.

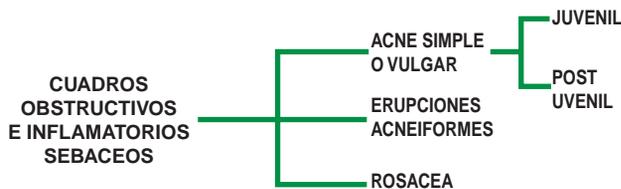
Correo electrónico: mjaramillobriceno@yahoo.es

INTRODUCCIÓN

El acné vulgaris es la dermatosis más frecuente, se presenta en la adolescencia en un 60% a 80% en los varones y en un 30% a 50% en las mujeres. Se caracteriza por presentar comedones cerrados no inflamatorios (puntos blancos), comedones abiertos (puntos negros) o lesiones inflamatorias (pápulas, pústulas, nódulo-quistes, cicatrices); que se localizan en las áreas de la piel con mayor componente glandular sebáceo: cara, pecho y región superior del tronco. El acné es un cuadro dermatológico producido por reacción obstructiva del conducto excretor de la glándula sebácea con inflamación localizada o viceversa.



Existen una serie de cuadros obstructivos e inflamatorios de la glándula sebácea que no tienen relación con el acné vulgaris o juvenil como las erupciones acneiformes y una dermatosis especial con elementos pápulo-pustulosos que se denomina rosácea (anteriormente llamada acné rosácea)¹.



El acné vulgaris evoluciona de un modo crónico, con remisiones y recidivas múltiples, pudiendo persistir hasta después de los treinta años de edad. Es considerado una enfermedad resultante de la asociación de varios factores: genético, racial, dietético, condiciones climáticas, control hormonal de la actividad de la glándula sebácea, proporción de la excreción de sebo y microflora bacteriana. Entre los microorganismos que constituyen la microflora bacteriana del folículo pilosebáceo se considera al Propionibacterium acnes como uno de los agentes que interviene en el proceso inflamatorio en los diversos grados de acné vulgaris¹.

En 1971 Plewig y col.² demostraron que la formación del acné era el resultado de una hiperqueratinización y un incremento de la resistencia a la exfoliación de estas células (hiperqueratosis con retención). En 1975 Cunliffe y col.³ lo definieron como una condición patológica del folículo sebáceo de piel humana presentándose frecuentemente sobre la cara,

la espalda y/o en una zona limitada o sobre el pecho. Londoño y col. en 1981⁴ definieron al acné como una enfermedad del canal infundibular del folículo sebáceo a cuyo nivel se produce inicialmente una hiperproliferación de células córneas con retención de material córneo y sebáceo, estos eventos conducirían a la formación del comedón que es la lesión primaria del acné. En 1976 Woscoff y col.⁵ mencionaron la clasificación realizada por James y Tisserand en 1958, que establece cuatro grados según la severidad del acné. En 1980 Cove y col. mencionan otra clasificación que considera tres grados: leve, moderado y severo. Por su parte Allen y col.⁶ en 1982 reportan una clasificación de los grados de acné de acuerdo a la severidad de la lesión considerando: grado 0 (algunos comedones o pápulas, no observables), grado 2 (pequeñas pápulas y comedones en un cuarto del área facial), grado 4 (pequeños comedones, pequeñas y grandes pápulas, algunas pústulas, en un medio del área facial), grado 6 (grandes comedones abiertos, pápulas, pústulas prominentes, en tres cuartas partes del área facial) y grado 8 (lesiones altamente inflamatorias, pústulas prominentes en toda el área facial).

El objetivo de la presente investigación es establecer el rol que juega el Propionibacterium acnes en el desarrollo de esta dermatosis, su prevalencia en los pacientes estudiados, así como determinar la presencia de otro tipo de flora bacteriana acompañante.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio fue realizado en 20 pacientes con acné vulgaris, los cuales en el momento de la toma de muestra no presentaban cuadro infeccioso concomitante, ni antecedentes de procesos similares con menos de tres meses de antigüedad.

Procedimiento: Después de desinfectar la superficie cutánea facial con alcohol yodado, se procedió a tomar las muestras por expresión de las pústulas con hisopo estéril. Las muestras fueron sembradas inmediatamente en tubos con caldo tioglicolato (Bacto Fluid Thioglycollate Medium Dehydrated Difco) e incubadas a 37°C por 72 horas en anaerobiosis (jarra anaeróbica). Los criterios de lectura fueron:

- Positivo: Desarrollo denso con formación de sedimento granular en la parte inferior del tubo con presencia de ácido grasos.
- Negativo: Desarrollo en la parte superior del tubo, no se observa ácido grasos.

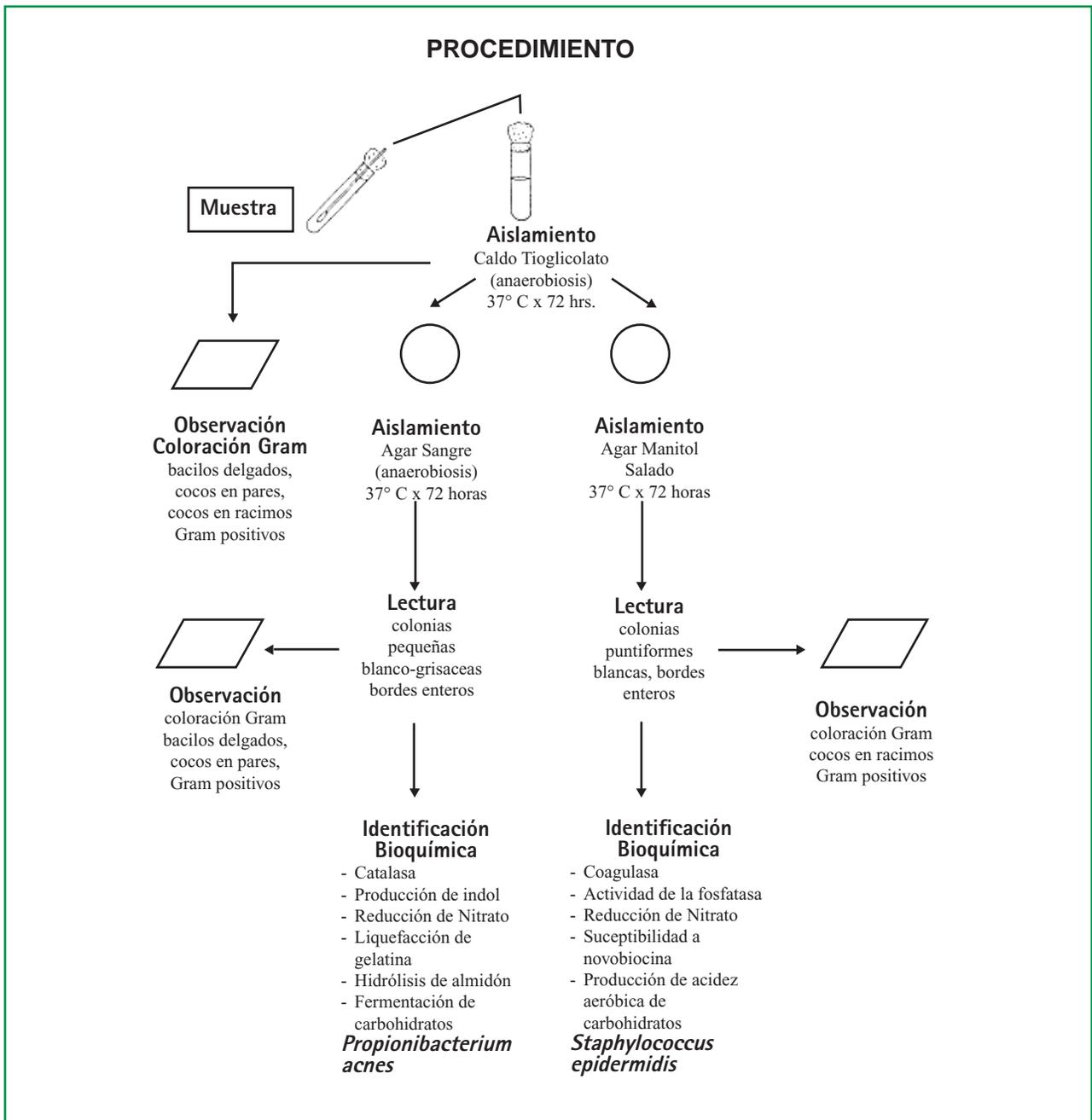
Se realizó la coloración Gram de los cultivos positivos y se observó bacilos delgados Gram positivos, en pares, sembrando letras chinas o en V o Y. Así como cocos Gram positivos en pares, además gran cantidad de gotas de grasa.

A partir del caldo tioglicolato se sembró en placas de agar sangre y en agar manitol salado, para aislar Propionibacterium y la flora estafilocócica acompañante. Las placas fueron incubadas a 37°C por 24 a 48 horas.

La lectura de las placas de agar sangre mostró dos tipos de colonias. Colonias pequeñas, de color blanco grisáceo, ligeramente mucosas, de bordes enteros, consideradas como Propionibacterium. Sólo algunas muestras presentaron β - hemólisis. Colonias puntiformes, de bordes enteros, de color blanco. Se realizó coloración Gram y se observó bacilos delgados Gram positivos y cocos Gram positivos en pares, que se consideraron tentativamente como Propionibacterium. En las placas de agar manitol salado se observaron colonias puntiformes, de bordes enteros, de color blanco. Se realizó coloración Gram y se observó co-

cos Gram positivos en racimos que fueron considerados como Staphylococcus.

Se procedió a realizar la identificación bioquímica de las cepas aisladas¹⁶. Para la identificación de Propionibacterium se realizaron las pruebas de tolerancia al oxígeno, catalasa, producción de indol, reducción de nitrato, licuefacción de la gelatina, hidrólisis del almidón y pruebas de fermentación de carbohidratos. Para la identificación de Staphylococcus se realizaron las pruebas de coagulasa, fosfatasa, reducción de nitrato, susceptibilidad a Novobiocina y fermentación aeróbica de carbohidratos.



RESULTADOS

De los 20 pacientes estudiados, once fueron del sexo femenino y nueve del masculino, las edades variaron entre 17 y 29 años, ocho pacientes presentaban acné grado 4, ocho acné grado 6 y cuatro acné grado 8.

Todos los pacientes tenían piel grasosa y referían antecedentes de acné vulgaris en sus familiares. Se aisló *P. acnes* en los 20 pacientes, asociado a *Staphylococcus epidermidis* en siete y asociado a *P. granulosum* en uno. Los resultados obtenidos se presentan en la **Tabla I**.

Tabla I. Resultados del análisis microbiológico en pacientes con acné vulgaris.

Muestras	Edad años	Sexo	Grado de Acné	Tipo de Piel	Antecedentes familiares	Microorganismos aislados
1	20	F	6	graso	+	P.acnes, S. epidermidis
2	21	F	4	graso	+	P.acnes, S. epidermidis
3	20	M	6	graso	+	P.acnes
4	18	F	8	graso	+	P.acnes
5	19	M	4	graso	+	P.acnes
6	18	F	4	graso	+	P.acnes
7	25	F	6	graso	+	P.acnes
8	20	M	8	graso	+	P.acnes, P.granulosum
9	21	M	6	graso	+	P.acnes
10	21	M	6	graso	+	P.acnes
11	22	F	4	graso	+	P.acnes
12	20	F	6	graso	+	P.acnes
13	29	F	8	graso	+	P.acnes
14	29	M	6	graso	+	P.acnes, S. epidermidis
15	17	M	4	graso	+	P.acnes, S. epidermidis
16	24	M	4	graso	+	P.acnes
17	17	F	6	graso	+	P.acnes, S. epidermidis
18	25	F	4	graso	+	P.acnes, S. epidermidis
19	17	M	4	graso	+	P.acnes, S. epidermidis
20	29	F	8	graso	+	P.acnes

DISCUSIÓN

El acné vulgar es una enfermedad cuya etiopatogenia es considerada clásicamente como una alteración primaria de la unidad pilosebácea, caracterizándose a nivel clínico por brotes inflamatorios, con presencia de comedones, pápulas, pústulas, nódulos, abscesos, quistes y cicatrices. En la producción del acné vulgar intervienen cuatro factores: obstrucción del canal pilosebáceo por hiperqueratosis del conducto excretor, alteración de la producción de sebo (cuantitativa y/o cualitativa), cambios bioquímicos en los lípidos de superficie, y modificación de la flora bacteriana y el factor inmunológico en la respuesta inflamatoria. Todas estas alteraciones son reguladas directa o indirectamente por los niveles de andrógenos producidos a nivel gonadal, adrenal y en los tejidos periféricos. Los cuatro factores se imbrican entre sí resultando en las

complicaciones inflamatorias del acné. Sin embargo, aún no se conoce cuál es el primer paso del proceso ni por qué hay diferencias tan ostensibles en el grado de las lesiones entre un paciente y otro. Probablemente el cambio primario sería la alteración del patrón normal de queratinización del folículo, determinando hiperqueratosis del canal folicular; en consecuencia se obstruiría la unidad pilosebácea con la producción de la lesión básica del acné: el comedón¹.

Los pacientes con acné presentan una hipercornificación que se manifiesta clínicamente por comedones abiertos y cerrados. La causa no está clara según la hipótesis clásica: el efecto androgénico promovería la acción irritante de los lípidos del sebo sobre el conducto folicular. Los cambios iniciales se observan en la zona infrainfundibular, hay incremento en la proliferación epitelial y las células córneas quedan adheridas entre sí, sin poder desprenderse; el material queratinoso se hace cada vez más denso y desorganizado, y los gránulos de queratohialina están aumentados. Se produce así una hiperqueratosis de "retención" formándose un verdadero tapón córneo. Las paredes del infrainfundíbulo terminan dilatándose y se constituye de esta forma la primera lesión del acné: el comedón cerrado o punto blanco. La hiperqueratosis también se aprecia a nivel de la desembocadura de la glándula sebácea. Esto trae como consecuencia la retención del sebo que progresivamente distiende el canal y la glándula. Si el canal termina cerrándose, la lesión se evidencia también como un comedón cerrado.

Los comedones normalmente contienen pequeños pelos y gérmenes responsables de la reacción inflamatoria. La queratina es un potente irritante natural. La hidratación de la queratina disminuye el orificio folicular y por lo tanto agrava el acné, esto explica la exacerbación de las lesiones en pacientes que trabajan en lavanderías y cocinas. Quizás esto justifique también el aumento de las lesiones de acné en relación con el ciclo menstrual, se ha observado un empeoramiento de las mismas en la última semana del ciclo, luego de aquellos días en que el conducto se halla más cerrado a causa de la hidratación de la queratina.

A medida que progresa la queratinización, aumenta la colonización ductal por *Propionibacterium acnes* y *Staphylococcus epidermidis*, ambos con actividad lipasa. Los triglicéridos del sebo se hidrolizan a ácidos grasos libres, lo que puede contribuir a la hipercornificación, determinando un círculo vicioso en la formación de comedones. Cuando el comedón cerrado se abre al exterior se transforma en comedón abierto o punto negro (el color está dado por la presencia de melani-na y alteraciones bioquímicas del sebo)⁷.

En el acné hay un incremento en la producción de sebo comparado con personas normales. Esto no depende solamente de la glándula sebácea, sino que deben existir otros

factores de tipo hormonal, bacteriano o "metabólico" que juegan un rol en la evolución del proceso. Probablemente el acné comience en la pubertad como consecuencia de la estimulación androgénica. Existen una serie de datos que indican que el sebo cumple un papel trascendente en esta patología. El escualeno, que es comedogénico, tiene una gran capacidad para generar un microambiente propicio para la colonización bacteriana y la producción de comedones. Se ha comprobado que los ácidos grasos saturados de 10 a 20°C tienen la misma capacidad. El sebo de pacientes con acné presenta niveles disminuidos de ácido linoleico. Este detrimento propiciaría la hiperqueratosis ductal. También se ha comprobado un aumento de la cantidad de escualeno, una disminución de algunos ácidos grasos libres y un aumento de los triglicéridos en los lípidos de superficie de los pacientes con acné. La hidrólisis del triglicérido del sebo por la lipasa bacteriana en particular por la de *Propionibacterium acnes* y la posterior irritabilidad por los ácidos grasos libres en el folículo pilosebáceo es un factor importante en la formación de las lesiones en acné vulgaris. Los ácidos grasos libres son la fracción del sebo más importante para la producción de inflamación, sobre todo los de cadena C8-C14. En períodos de seborrea se exacerba el acné. El acné se controla mediante la inhibición de la glándula sebácea por diferentes mecanismos: administración de estrógenos y antiandrogénos. La radioterapia disminuye la producción de sebo.

El *Propionibacterium acnes*, difterioide anaerobio, es el organismo predominante en la flora folicular. También se hallan el *P. granulosum* y micrococcos coagulasa negativos, sobre todo en las porciones más superficiales del folículo. Por último, también se han encontrado levaduras tipo *Pityrosporum ovale*⁸. Ha sido ampliamente evaluado el rol de la lipasa bacteriana en la patogénesis del acné vulgaris. La hidrólisis del triglicérido del sebo por la lipasa bacteriana, en particular la del *P. acnes*, y la consecuente irritabilidad por los ácidos grasos libres en el folículo pilosebáceo y su actividad comedogénica se ha demostrado. El *Propionibacterium acnes* y el *Staphylococcus epidermidis* son los microorganismos predominantes en las lesiones inflamatorias. Se ha reportado que el *Propionibacterium granulosum* ha sido aislado con más frecuencia en pacientes que presentaban acné severo en comparación con otros con acné leve.

La incubación in vitro de glándulas sebáceas con *P. acnes* y *P. granulosum* ha demostrado que estos organismos tienen más actividad lipolítica que otras bacterias cutáneas y además que el *P. granulosum* tiene más actividad que el *P. acnes*; pero al estar en mayor proporción este último, es más importante para la producción de la lipólisis. Además esta especie tiene la capacidad de producir enzimas como proteasas y hialuronidasas, y secretar factores quimiotácticos, que son importantes para el proceso inflamatorio.

Las enzimas producidas por *P. acnes* tienen pH óptimo para la actividad y estabilidad igual al rango de pH de la piel. La piel normal tiene un pH de 5.0 a 6.4, cuando presenta co-

medones es de 5.0 a 6.2; esto indica que tres de las enzimas exocelulares producidas por *P. acnes* se adaptan a un pH óptimo y estable de la piel, esto es en contraste con el pH óptimo de 7.8 a 8.0 reportados para la producción de lipasa por *P. granulosum*. Las enzimas exocelulares producidas por *P. acnes* juegan un rol directo en la iniciación y mantenimiento de las lesiones de acné. Así, la hialuronato liasa lesiona las células en la parte inferior del folículo pilosebáceo produciendo una difusión de enzimas irritantes dentro de la dermis, comprobándose así, que esta enzima después de la destrucción de los comedones actúa como factor de extensión e intensifica la respuesta inflamatoria⁹. La actividad de la neuraminidasa en el folículo pilosebáceo puede causar daño en el tejido y en las células de la membrana por ataque de residuos de ácido siálico sobre la superficie de las células. Así, las diferentes enzimas pueden disolver la pared del conducto; ciertos factores quimiotácticos (moléculas de bajo peso molecular) que no requieren la activación pueden escapar del folículo y atraer los polimorfonucleares. Estos últimos pueden entrar en el folículo y fagocitar al *P. acnes*, liberando enzimas proteolíticas y produciendo daño epitelial¹⁰.

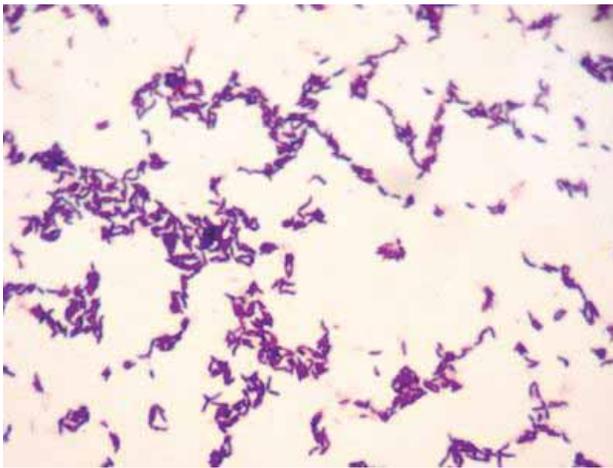
La inmunidad del huésped es un factor de relevancia para modular las alteraciones inflamatorias provocadas por los microorganismos. Se ha encontrado en pacientes con acné anticuerpos circulantes contra el *P. acnes* y depósitos de C3 en la membrana basal de muchas unidades afectadas y en los vasos sanguíneos de la dermis de pacientes con acné. Los estudios con inmunofluorescencia han demostrado que en las lesiones inflamatorias se produce inicialmente una activación de las vías clásica y alterna del complemento, causando reacciones inmunológicas tipo III y IV. La activación del complemento sería el responsable de la conversión de una lesión no inflamada en una inflamada, porque genera productos tales como C3a y C5a. Esta conversión produce mediadores de la actividad inflamatoria los cuales desencadenan los procesos inflamatorios, aumentando la permeabilidad vascular y produciendo el edema¹¹.

Un estudio reveló que los linfocitos implicados en la inmunidad celular (T-helper y T-suppressor) no presentan alteraciones en número ni a nivel de sus receptores en el acné. Los pacientes que presentan severas lesiones nodulares son portadores del HLA Cw6. El *P. acnes* es sumamente quimiotáctico para polimorfonucleares y mononucleares, y es capaz de sintetizar sustancias "prostaglandinas-like"; esto podría explicar la utilidad de algunos antiinflamatorios no esteroides en el acné. Entre los 11-15 años prácticamente no existen *P. acnes* en controles sanos, pero en los pacientes con acné el número de microorganismos es mayor a 100 000/cm²¹².

La adolescencia y la aparición consecuente de la seborrea se asocian con un aumento significativo de *P. acnes*,

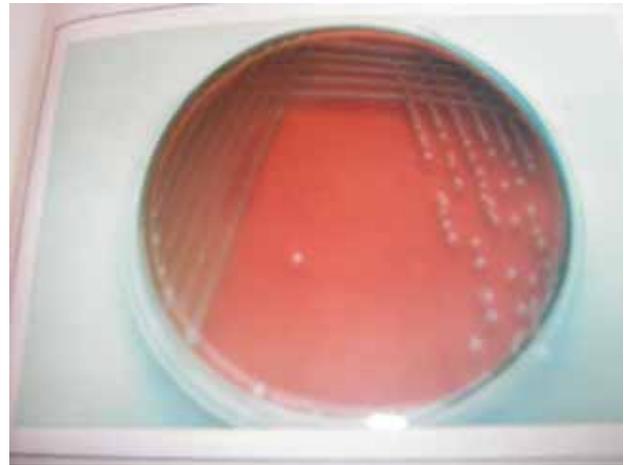
pero esta enfermedad no es un problema infeccioso y no hay relación entre el número de bacterias contenidas en la piel y los conductos y la severidad del acné. Probablemente es más importante el ambiente en el que se mueven las bacterias (pH y tensión de oxígeno), que su número total para el desarrollo de las lesiones¹³.

El *Propionibacterium acnes*, denominado anteriormente *Bacilo acnes*, *Actinobacterium liquefaciens*, *Corynebacterium acnes*, *Diphtheroide anaeróbico*, es un microorganismo Gram positivo que se presenta como células cocoides o coccobacilares, bifidas y a veces en cadenas, en pares o formando configuraciones en "V" o "Y", o semejando letras chinas.



Fotografía 1. Coloración Gram: *P. acnes*.

Se encuentra generalmente sobre la piel del hombre, en el tracto intestinal tanto del hombre como de los animales, en el tracto respiratorio, siendo algunas cepas consideradas patógenas¹⁴. Este microorganismo es anaeróbico aerotolerante, en cultivos incubados aeróbicamente desarrollan hasta un 2% de las cepas y en cultivos incubados en jarra anaeróbica desarrollan hasta un 30%. Se caracteriza por presentar colonias en forma lenticular, pequeñas de 4mm, blancas y algunas veces pueden ser rosadas y anaranjadas en cultivos de tres semanas. En agar sangre desarrolla formando microcolonias transparentes, lisas, de borde entero, de tipo estreptocócico o microcócico, pueden formar macrocolonias pequeñas, circulares, blancas a rosadas en cultivos viejos. Un 18% de las cepas presentan β -hemólisis. Los cultivos en caldo glucosado son turbios o claros y forman un sedimento que puede ser granular, flocular o filamentoso a pH de 4.7 a 6.2, cuando se desea obtener un desarrollo más rápido se puede añadir Tween 80 al medio de cultivo. A partir de la fermentación de carbohidratos produce considerable cantidad de ácido láctico y ácido propiónico. Cuando es cultivado en medio tioglicolato produce ácidos grasos de cadena larga¹⁵.



Fotografía 2. Cultivo Agar Sangre: *P. acnes*.

En el presente trabajo de investigación hemos hallado que la flora bacteriana que presentan los 20 pacientes estudiados está constituida mayormente por *Propionibacterium acnes* y la asociación de *Propionibacterium acnes* y *Staphylococcus epidermidis*. Nuestros hallazgos coinciden con los resultados obtenidos por Shehadeh y col.¹⁷, y Marples y col.¹⁸, quienes reportaron que la flora de las lesiones inflamatorias del acné estaba constituida predominantemente por *Propionibacterium acnes* y *Staphylococcus epidermidis*. Hemos observado que *Propionibacterium granulosum* se presenta con menos frecuencia y en pacientes con acné severo, lo que coincide con lo reportado en el trabajo de Marples y col. Es importante considerar que la flora bacteriana de las lesiones de acné difiere de la de los folículos normales, lo que fue comprobado por Puhvel y col.¹⁹

Además de la flora bacteriana, participan otros factores que se encuentran asociados con el desarrollo del acné o influyen sobre los períodos de exacerbación o la severidad de la erupción, siendo estos el control hormonal de la actividad de la glándula sebácea, el genético, la proporción de la excreción del sebo, las condiciones climáticas, la dieta, la raza y el contacto con acnégenos. Considerándose por lo tanto, que el acné tiene una unidad patogénica y clínica, pero una pluralidad etiológica.

En el presente estudio observamos que los 20 pacientes refieren antecedentes de acné en sus familiares, lo cual indicaría la existencia de un factor genético. En 1981 Londoño y col. reportaron la existencia de una predisposición genética por la frecuencia familiar de la enfermedad y por la existencia de grupos étnicos (raza negra) en los cuales no se presenta el acné vulgaris. Probablemente representa una respuesta exagerada de la unidad pilosebácea a niveles normales de andrógenos circulantes. El papel que juega la 5 α -reductasa en esta respuesta ha sido ampliamente aclarado. En 1980 Shuster y col.⁷ demostraron que la biosíntesis de los lípidos cutáneos se hallaba incrementada en los pa-

cientes con acné severo y sugirieron que la epidermis podría estar sujeta a estímulos sebtrópicos y lipogénicos que afectarían a las glándulas sebáceas, los pacientes estudiados presentaban piel grasosa. Otros factores como la dieta y las condiciones climáticas tienen menor importancia. Algunos pacientes estudiados refieren una exacerbación del acné con la ingesta de ciertos alimentos grasos, pero la mayoría no seguía una dieta hipograsa, pues no producía resultados. Parece que los rayos ultravioleta tienen efecto benéfico principalmente en las lesiones superficiales, pero las formas severas se exacerban en los climas cálidos y húmedos. Esto se debe a la hidratación de la queratina consecutiva al aumento de la sudoración.

Las lipasas producidas por *Propionibacterium acnes* liberan ácidos grasos a partir de los triglicéridos del sebo de las glándulas sebáceas y estos ácidos grasos libres son capaces de inducir una descamación anormal y/o formación del comedón. Los antígenos contra *Propionibacterium acnes* reaccionan con los anticuerpos activando el complemento generando C3a y C5a los cuales a su vez producen mediadores de la inflamación que desencadenan los procesos inflamatorios.

De la bibliografía consultada y los resultados obtenidos podemos afirmar que *Propionibacterium acnes* juega un rol directo en la iniciación y mantenimiento de las lesiones de acné vulgaris.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. FITZPATRICK TB, EISEN AZ. The sebaceous glands and acne. *Dermatology in General Medicine*, 5th edition. New York 1992.
2. PLEWIG G, FULTON JE, KLIGMAN AM. Cellular dynamics of comedo formation in acne vulgaris. *Arch Dermatol Forschung*. 1971;242:12-29.
3. CUNLIFFE WJ, COTTERILL JA. The acnes: clinical features, pathogenesis and treatment. *Major Problems in Dermatol*. Vol. 6. Londres.
4. LONDOÑO F, DURAND DE RUEDA MM. Los acnés. *Rev Mex Dermatol*. 1981;XXV:348-61.
5. WOSCOFF A, VIGNALE RA. Inmunología del acné. *Arch Argent Dermatol*. 1981;XXXI: 297-301.
6. ALLEN M, SMITH JR. MD. Various parameters for grading acne vulgaris. *Arch Dermatol*. 1982;118:23-25.
7. SHUSTER S, COOPER MF, MC. GIBBON D, WILSON PD. Epidermal lipid biosynthesis in acne. *Br J Dermatol*. 1980;103:127-130.
8. HOLLAND KT, INGHAM E, CUNLIFFE WJ. A review the microbiology of acne. *J Appl Bacteriol*. 1981;51:195-215.
9. INGHAM E, HOLLAND KT, GOWLAND G, CUNLIFFE WJ. Purification and partial characterization of hyaluronate lyase - (EC 4.2.2.1) from *Propionibacterium acnes*. *J Gen Microbiol*. 1979;115:411-8.
10. WEBSTER GF, LEYDEN JJ, MC. GINLEY KJ, MC. ARTHUR WP. Suppression of polymorphonuclear leukocyte chemotactic factor production in *Propionibacterium acnes* by subminimal inhibitory concentrations of Tetracycline, Ampicillin, Minocycline and Erythromycin. *Antimicrob Agents Chemother*. 1982;21:770-2.
11. DAHL MGC, MC. GIBBON DH. Complement C3 and immunoglobulin in inflammatory acne vulgaris. *Br J Dermatol*. 1979;101:633-40.
12. KLIGMAN AM. An overview of acne. *J Invest Dermatol*. 1974;62:268-87.
13. HELLGREN L, SELSTAM G, VINCENT J. Prostaglandin like substances in *Propionibacterium acnes* II Stimulatory effect of ovarian cyclic AMP. *Experientia*. 1979;35:196-7.
14. BAILED, SCOTT. *Diagnóstico Microbiológico*. Sexta Edición. Editorial Médica Panamericana. S.A. Buenos Aires. 1984.
15. HOFFLER V, KO HL, PULVERER G. Serotyping of *Propionibacterium acnes* and related microbial species. *FEMS Microbiology Letters*. 1977;2:5-9.
16. BAUER JD. *Clinical Laboratory Methods*. The C.V. Mosley Company USA. 1982.
17. SHEHADEH NH, KLIGMAN AM. The bacteriology of acne. *Arch Dermatol* 1963;88:829-31.
18. MARPLES RR, MC. GINLEY KL, MILLS OH. Microbiology of comedones in acne vulgaris. *J Invest Dermatol*. 1973;60:80-83.
19. PUHVEL SM, AMIRIAN DA. Bacterial flora of comedones. *Br J Dermatol*. 1979;101:543-8.